

**ARTIGO CIENTÍFICO**  
**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO - GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA**

ESTUDO COMPARATIVO DAS ASSINATURAS GÊNICAS DE CÉLULAS DE CÂNCER DE MAMA  
HER2+ NÃO TRATADAS, TRATADAS E RESISTENTES AO TRASTUZUMABE.  
Comparative Study of Gene Signatures in Untreated, Treated, and Trastuzumab-Resistant  
HER2+ Breast Cancer Cells.

Ana Luísa Guerra Reichert<sup>1</sup>  
Kelly Cristina Rodrigues Simi<sup>2</sup>

**RESUMO**

O Câncer de Mama HER2 positivo é caracterizado por apresentar o receptor 2 do fator de crescimento epidérmico humano. O Trastuzumabe é um anticorpo monoclonal que inibe o HER2 e as vias de sinalização que levam à proliferação do câncer. Entretanto, alguns pacientes passam a apresentar resistência ao tratamento. Esse trabalho buscou pontuar os principais genes diferencialmente expressos encontrados em células tratadas com o Trastuzumabe e os genes diferencialmente expressos que podem estar relacionados à resistência. Para isso, foi realizada uma análise *in silico* de dados genéticos de três artigos científicos e da plataforma UALCAN, e a seleção e a tabulação dos genes foi feita usando ferramentas computacionais. Foram encontrados quatro genes up-regulados e dois genes down-regulados nas células tratadas, enquanto foram encontrados cinco genes up-regulados e sete genes down-regulados nas células resistentes, porém são necessários mais estudos sobre a sua relação com as vias de resistência ao Trastuzumabe.

**Palavras-chave:** câncer de mama; HER2+; Trastuzumabe; resistência; genes diferencialmente expressos.

**ABSTRACT**

HER2-positive breast cancer is characterized by the presence of the human epidermal growth factor receptor 2. Trastuzumab is a monoclonal antibody that inhibits HER2 and the signaling pathways leading to cancer proliferation. However, some patients develop resistance to the treatment. This study aimed to identify the main differentially expressed genes found in cells treated with Trastuzumab and the differentially expressed genes that may be related to resistance. An *in silico* analysis of genetic data from three scientific articles and the UALCAN platform was performed, and gene selection and tabulation were done using computational tools. Four up-regulated genes and two down-regulated genes were found in treated cells, while five up-regulated genes and seven down-regulated genes were found in resistant cells. However, further studies are needed to understand their relationship with Trastuzumab resistance pathways.

**Keywords:** breast cancer; HER2+; Trastuzumab; resistance; differentially expressed genes.

---

<sup>1</sup>Graduanda do Curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília – CEUB.

<sup>2</sup>Professora do Centro Universitário de Brasília – CEUB.

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer de mama apresenta uma incidência alarmante, uma vez que é a neoplasia maligna que atinge a população feminina brasileira com maior frequência. Segundo o relatório anual do Instituto Nacional do Câncer (INCA), do ano 2023 até o ano de 2025 são estimados 73.610 novos casos de câncer de mama no Brasil. Essa doença torna-se ainda mais preocupante uma vez que a célula cancerígena mamária pode se proliferar vagarosamente ao longo de vários anos dependendo do subtipo de câncer de mama. Isso dificulta a percepção do tumor por meio da autopalpação e impede que um diagnóstico precoce seja feito. Ademais, caso ocorra metástase do tumor, a doença pode voltar a se manifestar anos após o tratamento ter sido encerrado (BRASIL, 2023; MACHADO; SOUZA, 2022).

Existem diversos fatores que influenciam diretamente no tipo de tratamento que será utilizado para combater o câncer de mama. Entre esses fatores está a expressão do receptor de estrogênio (ER), do receptor de progesterona (PR), do receptor 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER2), ou a falta de expressão desses três receptores, que classifica o câncer do tipo triplo negativo (TNBC) (FRAGOMENI; SCIALLI; JERUSS, 2018).

O HER2 pertence a família receptor tirosina quinase da proteína B da eritroblastose (ErbB) e apresenta grande importância clínica por ter expressão acentuada em 20 a 30% dos cânceres de mama mais agressivos. A sua estrutura é composta por uma porção extracelular com quatro domínios (I-IV) e uma porção intracelular conectada a uma hélice transmembrana. A ativação desse receptor depende da sua dimerização e da sua ligação com o fator de crescimento epidérmico, iniciando assim as vias de transdução de sinal intracelulares que promovem o crescimento e diferenciação das células epiteliais, bem como a angiogênese do tumor. Compreender o papel do HER2 no câncer de mama é fundamental para a escolha do tipo de tratamento que será iniciado (ZHAO *et al*, 2021; HOFF *et al*, 2023).

O câncer de mama pode ser tratado de diversas maneiras, entre as principais delas estão o tratamento local, a cirurgia, a radioterapia, a quimioterapia e a hormonioterapia. Com o avanço da medicina, cada vez mais se tem buscado priorizar um tratamento individualizado para as pacientes com câncer de mama. Para isso, é necessário avaliar alguns parâmetros, como o estadiamento do câncer e os marcadores biológicos característicos do tumor. Além desses aspectos, é importante considerar algumas condições específicas da paciente, entre elas idade, comorbidades, preferências e níveis hormonais. Um dos tipos de tratamentos individualizados que vem avançado bastante na medicina é a imunoterapia (COSTA *et al*, 2021).

Nos últimos anos, houve um notável avanço no conhecimento a respeito de como o sistema imune auxilia no combate a diversos tipos de neoplasias. Portanto, variados tipos de imunoterapia têm sido implementadas no tratamento do câncer, entre eles estão os inibidores de *checkpoint* imunológico, as vacinas preventivas e os anticorpos monoclonais, que são imunoglobulinas desenvolvidas a partir de um único clone de linfócito B que interagem com moléculas extremamente específicas da superfície da célula cancerígena. A partir dessa ligação com a célula tumoral, os anticorpos monoclonais promovem a citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpos (ADCC) e pelo sistema complemento (JORGE, 2019).

Os anticorpos monoclonais têm um grande destaque no tratamento do câncer de mama HER2 positivo. Um desses anticorpos é o Trastuzumabe, também conhecido como Herceptin®, que é do tipo imunoglobulina 1 (IgG1) humanizado e recombinante. Seu

mecanismo de ação consiste basicamente em se ligar de forma específica ao domínio extracelular do HER2, inibindo a ativação das vias de sinalização intracelulares responsáveis pela proliferação da célula cancerígena. E além de inibir as vias de sinalização, o Trastuzumabe também é capaz de auxiliar a citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpos (ADCC) do sistema imunológico (HOFF *et al*, 2023; BRAVO *et al*, 2023).

Em contrapartida, mesmo que o Trastuzumabe apresente uma aplicação clínica muito eficiente e grande desempenho no combate às células tumorais HER2+, alguns pacientes apresentam uma resistência primária a ele, sem apresentar qualquer tipo de resposta à terapia, ou até mesmo uma resistência secundária, que é adquirida ao longo do tratamento enquanto a resposta ao fármaco passa a decair. Essa resistência está ligada a ativação e desregulação de muitas vias, entre algumas delas estão: a via Janus quinase (JAK) / transdutor de sinal e ativador de transcrição três (STAT3), cuja ativação contribui para tumorigenicidade; a via Wnt/ $\beta$ -catenina, cuja ativação resulta na transativação do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) e na indução de transição epitelial-mesenquimal (TEM); e a via Fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K)/proteína quinase B (Akt)/alvo mecanístico da rapamicina (mTOR) que ativa vias de sinalização alternativas e estimula a expressão de outros receptores do tipo HER, levando à proliferação das células neoplásicas (VIVEKANANDHAN; KNUTSON, 2022).

Tendo isso em vista, é perceptível que, a depender da forma como se expressa, a célula cancerígena apresenta vias de sinalização e biomarcadores de grande relevância clínica. Levando em consideração que esses biomarcadores apresentam valor prognósticos e preditivos importantes, é possível utilizar a bioinformática para comparar a expressão dos genes que os codificam e entender como eles influenciam na progressão da doença. Dessa forma, além de serem potenciais novos alvos para futuras terapias, facilitando o diagnóstico, a expressão desses marcadores pode auxiliar na escolha pelo melhor tratamento individualizados para as pacientes com câncer de mama HER2 positivo. (FERNANDEZ-MARTINEZ *et al*, 2024; YU *et al*, 2024).

A partir dos avanços tecnológicos em pesquisas a respeito das doenças neoplásicas, novos dados são disponibilizados constantemente. Dessa forma, é necessário realizar a análise desses novos dados para que o repertório a respeito das características moleculares encontradas nas células tumorais mamárias aumente ainda mais. Para isso, a análise de Genes Diferencialmente Expressos (DEGs) tem sido muito utilizada pelos pesquisadores. Esses DEGs são registrados em uma lista após comparar a expressão gênica entre duas células, assim é possível perceber quais foram as alterações genéticas encontradas em cada uma delas. Esses genes podem ser tanto up-regulados, apresentam expressão aumentada em uma célula específica ao ser comparado com outra célula, quanto down-regulados, com uma expressão diminuída. Essas alterações quanto a expressão dos genes são percebidas por meio da quantificação de níveis de Ácido Ribonucleico mensageiro (RNAm) obtida por do sequenciamento de transcritos (RNA-Seq) (RODRIGUEZ-ESTEBAN; JIANG, 2017).

A partir dessas considerações, foi realizada neste trabalho uma análise *in silico* utilizando listas de DEGs de células cancerígenas mamárias HER2+: não tratadas, tratadas com Trastuzumabe e resistentes ao Trastuzumabe. O objetivo deste trabalho foi determinar quais são os possíveis genes menos expressos em função do tratamento com Trastuzumabe, quais são os possíveis genes mais expressos em função do tratamento com Trastuzumabe e quais genes podem estar relacionados com a resistência ao Trastuzumabe.

## 2 MÉTODO

### 2.1 Coleta de dados

Os dados utilizados para as análises deste trabalho foram as listas de DEGs fornecidas pelos trabalhos de WANG *et al* (2019), disponível em (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6617483/bin/medi-98-e15872-s001.pdf>), VON DER HEYDE *et al* (2015), disponível em (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4339844/bin/pone.0117818.s003.xlsx>) e MURAD *et al* (2021), disponível em (<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0378111921004030-mmc2.xlsx>).

As listas de DEG destes trabalhos continham o valor de *LogFold Change*, parâmetro que indica quantas vezes o gene foi mais expresso (up-regulado) ou menos expresso (down-regulado), de comparações entre células cancerígenas mamárias HER2+ tratadas com Trastuzumabe (WANG *et al*, 2019) e não tratadas (UALCAN) ou células cancerígenas mamárias HER2+ resistentes ao Trastuzumabe e não resistentes (MURAD *et al*, 2021; VON DER HEYDE *et al*, 2015).

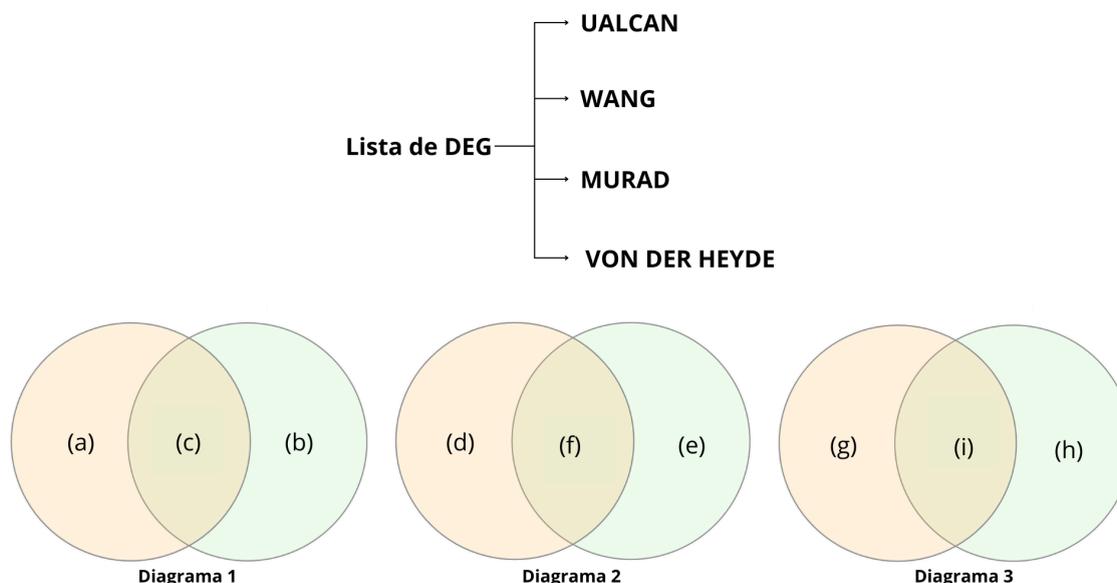
Para obter a lista que comparava os DEGs de células mamárias saudáveis e de células cancerígenas mamárias não tratadas foi utilizada a plataforma online UALCAN (<https://ualcan.path.uab.edu/>). O *University of Alabama at Birmingham Cancer data analysis Portal* (UALCAN) é um portal online que facilita o acesso, a visualização e a análise do perfil genômico, transcriptômico e proteômico de 33 tipos de câncer, além da variação da expressão gênica e a correlação entre os genes desses tumores, sobrevivência dos pacientes e diversos outros parâmetros de grande importância. O UALCAN utiliza sequenciamento de Ácido Ribonucleico (RNA) de nível três (RNA-seq) para processar os dados pré-computados do Atlas do Genoma do Câncer (TCGA), proporcionando aos pesquisadores um estudo simplificado e acessível da expressão gênica de 20.500 genes codificadores de proteínas (CHANDRASHEKAR *et al*, 2022).

### 2.2 Análise dos dados

As listas contendo os DEGs foram tabuladas utilizando planilha do Excel. A partir das listas criadas, os diagramas de Venn foram gerados por meio da plataforma InteractiVenn (<http://www.interactivenn.net/>) desenvolvida por Heberle *et al*. (2015), com o objetivo de gerar listas de genes de interseção das comparações.

No total, foram gerados três diagramas para entender a influência do Trastuzumabe sobre a expressão dos genes das células cancerígenas mamárias e responder as três perguntas deste trabalho. Os diagramas foram criados conforme o fluxograma esquemático da figura 1, sendo: a) lista de genes up-regulados segundo UALCAN; b) lista de genes down-regulados segundo WANG *et al* (2019); c) interseção com genes a serem analisados; d) lista de genes down-regulados segundo UALCAN; e) lista de genes up-regulados segundo WANG *et al* (2019); f) interseção com genes a serem analisados; g) lista de genes diferencialmente expressos segundo VON DER HEYDE *et al* (2015); h) lista de genes diferencialmente expressos segundo MURAD *et al* (2021); i) interseção com genes a serem analisados;

Figura 1 - Fluxograma esquemático das análises das listas de DEG.



Legenda: Representação dos trabalhos dos quais foram obtidas as listas de DEGs para posterior tabulação no Excel. Diagrama 1 - genes up-regulados em células cancerígenas mamárias HER2 positivas não tratadas X genes down-regulados em células cancerígenas mamárias HER2 positivas tratadas com Trastuzumabe; Diagrama 2 - genes down-regulados em células cancerígenas mamárias HER2 positivas não tratadas X genes up-regulados em células cancerígenas mamárias HER2 positivas tratadas com Trastuzumabe; Diagrama 3 - DEGs em células cancerígenas mamárias HER2 positivas resistentes ao Trastuzumabe descritos tanto no trabalho de MURAD *et al* (2021) quanto no trabalho de VON DER HEYDE *et al* (2015).

Em relação ao Diagrama de Venn feito com base nos trabalhos de MURAD *et al* (2021) e de VON DER HEYDE *et al* (2015), os genes que se apresentaram em sua interseção foram tabulados no Excel. Em seguida foi aplicado um filtro que tinha como objetivo manter apenas os genes que se apresentavam igualmente up-regulados ou down-regulados em ambos os trabalhos.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

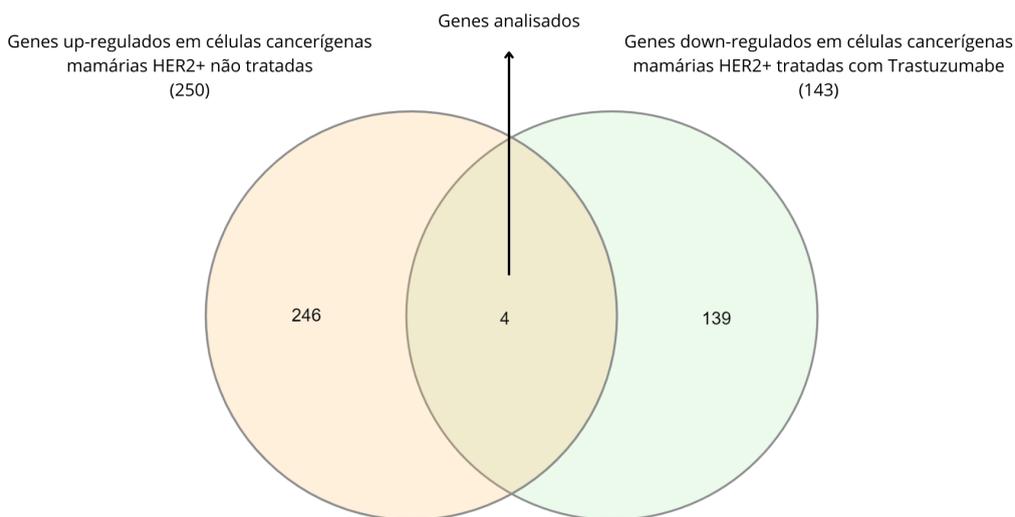
#### 3.1 Possíveis genes menos expressos em função do tratamento com Trastuzumabe.

As primeiras análises realizadas neste trabalho tinham como objetivo determinar se os genes inibidos pelo Trastuzumabe têm ligação com a evolução do tumor de células mamárias cancerígenas HER2 positivas. Para o esclarecimento dessa questão foi necessário identificar quais genes se apresentam concomitantemente down-regulados em células tratadas com o Trastuzumabe e up-regulados em células não tratadas. Para a identificação desses genes específicos foi criado o Diagrama de Venn utilizando lista de genes up-regulados no câncer sem tratamento (UALCAN) e lista de genes down-regulados pelo tratamento com Trastuzumabe (WANG *et al*, 2019).

Foi possível verificar que 139 genes que se encontram down-regulados nas células tratadas com Trastuzumabe não se apresentam up-regulados nas células não tratadas, bem

como 246 genes que estão up-regulados em células não tratadas não estão down-regulados nas células tratadas com Trastuzumabe. Entretanto, ao avaliar a interseção do diagrama, verificou-se que existem 4 genes que se encontram down-regulados em células tratadas com Trastuzumabe e se apresentaram up-regulados em células não tratadas, conforme será apresentado na figura 2 abaixo.

Figura 2 - Correlação entre genes up-regulados em células não tratadas e down-regulados em células tratadas com Trastuzumabe.



Legenda: A figura 2 foi gerada pela ferramenta Interactive Venn, através do compilado dos dados de DEGs obtidos pelo UALCAN e pelo trabalho de WANG *et al* (2019), gerando assim um Diagrama de Venn com intersecção dos genes up-regulados em células cancerígenas mamárias HER2 positivas não tratadas e genes down-regulados em células cancerígenas tratadas com Trastuzumabe.

A tabela 1 apresenta a descrição dos genes de interseção obtidos no diagrama de Venn a partir de informações obtidas no GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). O GenBank é um banco de dados público on-line e de fácil acesso disponibilizado pelo *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Esse banco de dados contém mais de vinte e cinco trilhões de pares de bases e suas sequências de nucleotídeos disponibilizadas pelo *European Nucleotide Archive* (ENA) e pelo *DNA Data Bank of Japan* (DDBJ). O principal objetivo dessa plataforma é fornecer informações atualizadas e confiáveis sobre sequências de DNA, facilitando o acesso de pesquisadores a essas informações (SAYERS *et al*, 2024). Os genes de interseção obtidos no diagrama de Venn são: CXCL10, CALML5, PLAUR e TAP1.

Tabela 1 - Descrição dos 4 genes up-regulados em células não tratadas e down-regulados em células tratadas com Trastuzumabe.

Genes	Descrição
CXCL10	Codifica quimiocina que se liga ao receptor CXCR3. Essa ligação promove diversas ações, entre elas o estímulo de monócitos e células natural killer (NK), a migração de células T e a modulação da expressão gênica de moléculas de adesão.

CALML5	Codifica proteína de ligação ao cálcio presente nas células da epiderme; essa proteína passa por uma mudança conformacional após se ligar ao cálcio; sua expressão em grande escala ocorre apenas para a diferenciação de queratinócitos e somente em epiderme reconstituída; pode se associar à enzima transglutaminase 3, que apresenta um papel essencial na diferenciação terminal de queratinócitos.
PLAUR	Codifica o receptor do ativador do plasminogênio tipo uroquinase (uPAR); auxilia na localização e na estruturação da proteína plasmina; possivelmente exerce influência sobre processos ligados à ativação do plasminogênio presente na membrana plasmática das células e à degradação da matriz extracelular em pontos específicos; tem papel importante na localização do ativador do plasminogênio.
TAP1	Codifica o transportador associado ao processamento de antígeno 1, uma proteína associada à membrana que pertence a família <i>ATP-binding cassette (ABC) transporters</i> ; essa família de proteínas atua no transporte intra e extracelular de moléculas através da membrana plasmática; é uma proteína que participa do bombeamento de peptídeos citosólicos degradados pelo interior do retículo endoplasmático até um compartimento específico para moléculas de classe I, localizado na membrana da célula; está envolvida na resistência a diversos medicamentos.

Fonte: GenBank

Como visto na tabela 1, o gene CXCL10 é responsável por codificar uma quimiocina chamada proteína induzida por interferon gama 10 (IP-10). Estudos anteriores determinaram que essa quimiocina auxiliava no combate ao tumor pela mobilização de leucócitos para a região tumoral e aumento da inflamação local. Entretanto, estudos mais recentes vêm demonstrando que a expressão desse gene na realidade promove a proliferação, invasão e migração de células cancerígenas mamárias, além de ser um potencial modulador da transição epitelial-mesenquimal dessas células (KIM *et al*, 2021).

O CALML5 também foi um dos genes down-regulados pelo tratamento com Trastuzumabe. Atualmente, poucos estudos abordam a influência desse gene no câncer de mama. Um deles tratou sobre a ubiquitinação ligada a k63 do CALML5 em pacientes na pré-menopausa com câncer de mama. Essa ubiquitinação é uma modificação pós-traducional envolvida em diversos processos celulares, como o reparo de DNA. Nesse estudo foi demonstrado que o CALML5 apresenta uma di-ubiquitinação ligada a k63 que está envolvida na carcinogênese do câncer de mama. Além disso, foi visto que a proteína codificada por esse gene está aumentada no câncer de mama invasivo e metastático e que esse gene pode estar relacionado ao quadro altamente agressivo e com um grau considerável de recorrência apresentado pelos pacientes pré-menopausa com início precoce da neoplasia (DEBALD *et al*, 2013).

Outro gene relacionado a um quadro mais agressivo do câncer de mama é o PLAUR. Este gene, como descrito na tabela 1, codifica o receptor uPAR. Um estudo recente demonstrou que o processo de metástase foi altamente detectado em pacientes com câncer de mama que apresentavam uma maior expressão do gene PLAUR e altas quantidades do receptor uPAR. Ademais, também foi relatado que existe uma correlação direta entre uma maior expressão de HER2 e uma maior expressão de uPAR. Essa maior expressão concomitante de HER2 e uPAR está ligada a um fenótipo mais agressivo, com maior recorrência e metástase em tumores mamários primários. É importante ressaltar que a maior expressão de HER2 está relacionada a uma baixa taxa livre de doença, bem como menor sobrevida local. Portanto, uma maior expressão de uPAR também está conectada a esses aspectos e a um mau prognóstico (SMARADHANIA *et al*, 2021).

Enquanto o gene PLAUR possui uma influência mais bem definida no câncer de mama, o gene TAP1 tem apresentado um papel contraditório. Estudos anteriores determinaram que a maior expressão do gene TAP1 levaria a um aumento da produção da proteína responsável pela apresentação de antígenos tumorais pelo complexo de histocompatibilidade classe I (MHC-I) na superfície celular. Isso facilitaria a detecção desses antígenos pelos linfócitos T e promoveria uma resposta antitumoral. Porém, um estudo mais recente indicou que a maior expressão desse gene no câncer de mama pode estar relacionada ao desenvolvimento do câncer. Nesse estudo, os pesquisadores demonstraram que a maior expressão de TAP1 está correlacionada a uma baixa taxa de sobrevivência em cânceres de mama, pulmão e fígado (TABASSUM *et al*, 2021).

Além da pesquisa abordando a relação entre a expressão do gene TAP1 ao câncer de mama, pulmão, fígado e ovário, foi feito um estudo direcionado especificamente ao câncer de mama. Nesse estudo foi demonstrado que a maior expressão de TAP1 no câncer de mama pode indicar um fenótipo mais agressivo de tumor, uma vez que a maioria dos tumores de alto grau têm maiores níveis de expressão de TAP1. Assim, levantou-se a hipótese de que os níveis de TAP1 se encontram mais elevados em função de infiltrados imunológicos que secretam altas quantidades de IFN- $\gamma$ . Com a secreção de IFN- $\gamma$ , as células tumorais perdem o controle sobre seu próprio ciclo celular e sobre a expressão do gene TAP1, gerando células menos diferenciadas e tumores de estágio avançado (HENLE *et al*, 2017).

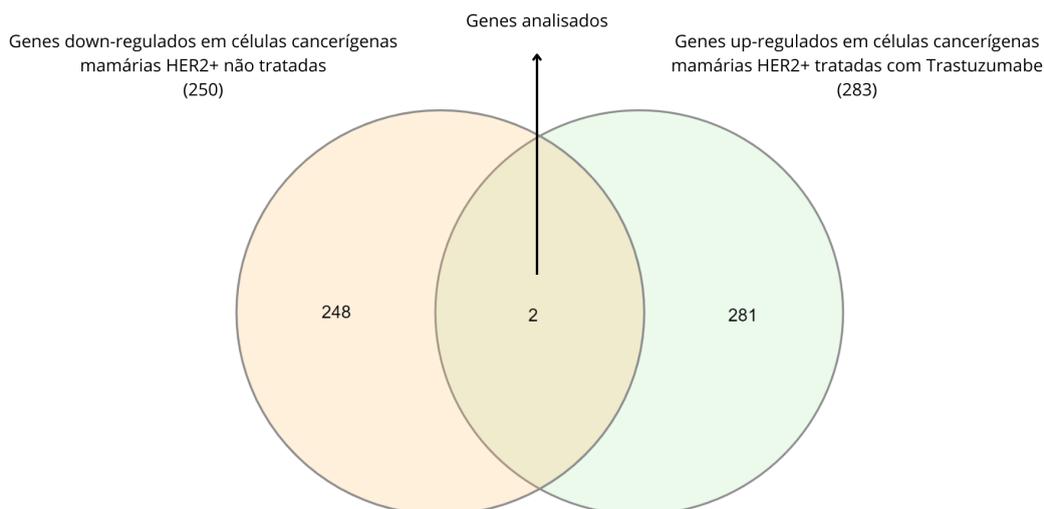
Todos esses genes estão relacionados a um mau prognóstico ou contribuem para a progressão do tumor mamário ou agravamento da doença de alguma forma. Portanto, o fato do Trastuzumabe estar diminuindo a expressão desses genes, como demonstrado na análise desse trabalho, indica que a ação desse anticorpo monoclonal proporciona uma melhor resposta antitumoral e melhora o prognóstico dos pacientes.

### **3.2 Possíveis genes mais expressos em função do tratamento com Trastuzumabe.**

Em seguida, buscou-se complementar a análise inicial da potencial ação do Trastuzumabe sob a expressão gênica tumoral. Formulou-se a hipótese de que os genes estimulados pelo Trastuzumabe podem estar envolvidos com a regressão do tumor a partir do tratamento. Para essa segunda análise foi necessário identificar quais genes se apresentam simultaneamente up-regulados em células tratadas com o Trastuzumabe e down-regulados em células não tratadas. Para esse propósito foi criado outro Diagrama de Venn utilizando lista de genes down-regulados no câncer sem tratamento (UALCAN) e lista de genes up-regulados pelo tratamento com Trastuzumabe (WANG *et al*, 2019).

Nessa análise foram identificados 281 genes que se encontram up-regulados nas células tratadas com Trastuzumabe não se apresentam down-regulados nas células não tratadas, além de 248 genes que estão down-regulados em células não tratadas não estão up-regulados nas células tratadas com Trastuzumabe, conforme será apresentado na figura 3 abaixo.

Figura 3 - Correlação entre genes down-regulados em células não tratadas e genes up-regulados em células tratadas com Trastuzumabe.



Legenda: A figura 3 foi gerada pela ferramenta Interactive Venn, através do compilado dos dados de DEGs obtidos pelo UALCAN e pelo trabalho de WANG *et al* (2019), gerando assim um Diagrama de Venn com intersecção dos genes down-regulados em células cancerígenas mamárias HER2 positivas não tratadas e genes up-regulados em células cancerígenas tratadas com Trastuzumabe.

Foram encontrados 2 genes na intersecção do Diagrama criado, ambos up-regulados em células tratadas com Trastuzumabe e down-regulados em células não tratadas. Esses genes foram: CPB1 e CDO1. A descrição desses genes se encontra na tabela 2 abaixo.

Tabela 2 - Descrição dos 2 genes down-regulados em células não tratadas e up-regulados em células tratadas com Trastuzumabe.

Genes	Descrição
CPB1	Enzima proteolítica carboxipeptidase B1, altamente específica do tecido pancreático; permite a ação da metalocarboxipeptidase; participa ativamente da proteólise que ocorre no espaço extracelular.
CDO1	Enzima cisteína dioxidase tipo 1, responsável por catalisar a conversão da L-cisteína a 3-sulfinoalanina; relacionada à ligação da cisteína ao ferro ferroso; envolvida na síntese de taurina e de aminoácidos sulfurados.

Fonte: GenBank

Apenas dois genes na análise deste trabalho foram up-regulados pelo Trastuzumabe. Um estudo recente indicou que níveis elevados do gene CPB1 está relacionada a melhores resultados de sobrevida livre de recidiva, sobrevida global e sobrevivência pós-progressão entre os pacientes com câncer de mama. Essa hipótese foi levantada pois nesse estudo as células de carcinoma ductal *in situ* que apresentavam maior expressão do gene CPB1 tinham uma menor probabilidade de progredir para carcinoma ductal invasivo, que é uma doença mais agressiva. Também foi descrito que uma menor expressão desse gene levou células de carcinoma ductal *in situ* a adquirirem propriedades invasivas, migratórias e tumorigênicas e levou a um quadro mais grave de câncer de mama (KOTHARI *et al*, 2021).

Enquanto o gene CPB1 foi relacionado à sobrevida dos pacientes, o gene CDO1 foi associado à supressão de diversos processos neoplásicos. O gene CDO1 codifica a cisteína dioxygenase 1 e sua expressão geralmente se encontra diminuída no câncer de mama, levando a um mau prognóstico e resultados desfavoráveis. Isso se deve a hipermetilação do promotor do gene CDO1, processo que silencia a transcrição do gene. Um estudo recente avaliou os efeitos da desmetilação do promotor de CDO1 com CRISPR/dCas9, e essa desmetilação levou a um aumento da expressão do gene CDO1. Foi observado que, quanto maior a expressão desse gene, maior é a supressão da migração, invasão e proliferação das células neoplásicas mamárias. Além disso, o gene também induziu a apoptose e ferroptose e impediu a progressão do seu ciclo celular das células tumorais (YANG *et al*, 2023).

Ambos os genes estão relacionados a melhores resultados de sobrevivência ou supressão do tumor mamário. Dessa forma, ao aumentar a expressão dos genes CPB1 e CDO1, como descrito na análise realizada nesse trabalho, mais uma vez é possível perceber o papel antitumoral do Trastuzumabe e sua influência em melhorar o prognóstico dos pacientes com câncer de mama HER2 positivo.

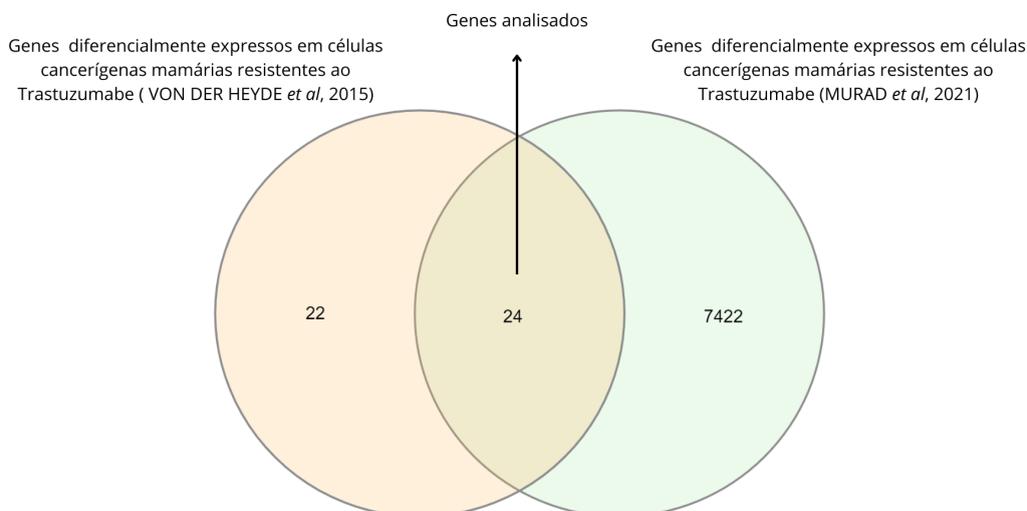
### **3.3 Genes que podem estar relacionados com a resistência ao Trastuzumabe.**

Além de células cancerígenas mamárias HER2 positivas não tratadas e células cancerígenas que responderam ao tratamento com Trastuzumabe, esse trabalho também se propôs a analisar a expressão genética de células cancerígenas mamárias HER2 positivas resistentes ao Trastuzumabe.

O trabalho de VON DER HEYDE *et al* (2015) comparou linhagens celulares sensíveis ao Trastuzumabe (BT474) a linhagens celulares com resistência intrínseca (HCC1954) e adquirida (BTR50) ao fármaco. Já o trabalho de MURAD *et al* (2021) comparou linhagens celulares sensíveis ao Trastuzumabe (SKBr3 e BT-474) a linhagens celulares com resistência adquirida (SKBr3HerR e BT-474HerR). A intenção de ambos os trabalhos foi detectar os genes que afetam a eficiência do Trastuzumabe sobre o tumor mamário.

Para examinar quais genes podem estar relacionados a essa resistência, foi criado um Diagrama de Venn utilizando lista de genes diferencialmente expressos de células resistentes ao Trastuzumabe geradas nos trabalhos tanto de MURAD *et al* (2021) quanto de VON DER HEYDE *et al* (2015). Foram encontrados no total 24 genes identificados em ambos os trabalhos conforme será apresentado na figura 4 abaixo. Esses genes foram: ACSS1, AFF3, ATP2A3, CLDN1, COLEC12, CTGF, ECI2, GBP1, GDF15, GREB1, IFI27, IFITM1, KLK5, KLK8, KRT5, KRT81, LCN2, NCAM2, RGL3, S100A9, STXBP2, TFF1, TFF3, TINAGL1.

Figura 4 - Correlação entre genes diferencialmente expressos em células resistentes ao Trastuzumabe.



Legenda: A figura 4 foi gerada pela ferramenta Interactive Venn, através do compilado dos dados de DEGs obtidos pelo pelos trabalhos de VON DER HEYDE et al (2015) e MURAD et al (2021), gerando assim um Diagrama de Venn com intersecção dos genes diferencialmente expressos em células cancerígenas mamárias HER2 positivas resistentes ao Trastuzumabe.

Após a tabulação dos DEGs encontrados na intersecção do Diagrama formado, foi aplicado um filtro que excluiu todos os genes que não eram up-regulados em ambos os trabalhos, bem como aqueles que não eram down-regulados em ambos os trabalhos. Com isso, dos 24 genes presentes na intersecção do Diagrama, 12 deles se encontravam up-regulados ou down-regulados em ambos os trabalhos. Mais especificamente, 5 deles se apresentaram up-regulados, sendo eles AFF3, ATP2A3, COLEC12, GREB1 e NCAM2, e 7 deles se apresentaram down-regulados, sendo eles CLDN1, IFI27, KRT5, KRT81, LCN2, S100A9 e STXBP2. A descrição desses genes se encontra na tabela 3 abaixo.

Tabela 3 - Descrição dos genes diferencialmente expressos em células cancerígenas mamárias HER2 positivas resistentes ao Trastuzumabe.

Genes up-regulados	Descrição
AFF3	Codifica um tipo de ativador transcricional do núcleo exclusivo ao tecido, principalmente ao tipo linfóide; pertence à família de genes LAF4/MLLT2; ao ativar o processo de transcrição do núcleo, pode influenciar no desenvolvimento linfóide e na oncogênese.
ATP2A3	Codifica um dos tipos das bombas intracelulares SERCA Ca(2+)-ATPases; se encontram nos retículos sarcoplasmáticos ou endoplasmáticos dos miócitos; responsável por catalisar a hidrólise do ATP ao passo que transloca o cálcio no sentido citosol-lúmen do retículo sarcoplasmático; um dos componentes essenciais para a excitação e contração muscular, uma vez que participa do

	processo de sequestro de cálcio.
COLEC12	Codifica um receptor necrófago, proteína do tipo lectina C; possui um papel importante quando se trata na defesa do organismo; auxilia no reconhecimento e na remoção de determinados microrganismos por possuir domínios de reconhecimento que se ligam a carboidratos; exerce um papel importante no reconhecimento, bem como na internalização e degradação, da lipoproteína de baixa densidade após ter sido alterada a partir do processo de oxidação realizados por células endoteliais vasculares.
GREB1	Gene diretamente influenciado pelo hormônio estrogênio e pelas vias que o receptor de estrogênio regula nas células de tecidos neoplásicos e de tecidos responsivos a hormônios.
NCAM2	Codifica uma proteína de membrana tipo I, uma imunoglobulina; está envolvida na fasciculação seletiva e na projeção zona a zona dos axônios olfatórios primários.
<b>Genes down-regulados</b>	<b>Descrição</b>
CLDN1	Codifica uma proteína do tipo claudina integrante da membrana celular e um dos elementos que forma as fitas de junção estreita no folheto citoplasmático e extracitoplasmático; importante na adesão celular epitelial e endotelial; por fazer parte da fita de junção estreita, evita a passagem desregulada de solutos pelo espaço paracelular.
IFI27	Codifica uma proteína situada na membrana da mitocôndria e na membrana interna do núcleo; é por meio dessa proteína que o fator de transcrição de ligação específica ao DNA da RNA polimerase exerce sua atividade de ligação; incluída no metabolismo de proteínas celulares; participa da defesa contra microrganismos invasores; atuante na via extrínseca da sinalização de apoptose; envolvida na regulação negativa da transcrição de RNA exercida pela RNA polimerase; regula a saída de proteínas do núcleo;
KRT5	Codifica a proteína citoqueratina tipo II; esse tipo de queratina se apresenta em uma morfologia de cadeias heterotípicas em pares; passam a se apresentar no decorrer da diferenciação dos tecidos epiteliais simples e estratificados; presente na camada basal da epiderme

	juntamente de um membro da família KRT14.
KRT81	Codifica proteína queratina capilar tipo II; participa da formação de cabelos e unhas; apresenta uma heterodimerização com queratinas tipo I; está altamente relacionada à subfamília das queratinas composta por KRTHB1, KRTHB3 e KRTHB6; está presente no no folículo capilar, mas principalmente no córtex capilar.
LCN2	Codifica proteína tipo lipocalina; uma de suas funções consiste em transportar algumas moléculas de caráter hidrofóbico como lipídios, hormônios esteroides e retinoides; está relacionada à gelatinase de neutrófilos; participa de alguns processos da imunidade inata como limitar o desenvolvimento de bactérias pelo sequestro de sideróforos; pode estar relacionada à homeostase do tecido cutâneo; pode estar linkada à supressão da invasividade e da metástase de células neoplásicas.
S100A9	Codifica uma proteína do tipo S100; apresenta dois motivos de ligação ao cálcio do tipo EF-hand; está presente no citoplasma, como também pode estar no núcleo, de diversos tipos de células; desempenha um papel importante na regulação da progressão e na diferenciação do ciclo celular; pode estar envolvida no processo de inibição de enzimas tipo caseína quinase;
STXBP2	Codifica proteína do tipo STXBP/unc-18/SEC1; participa do tráfego intracelular; envolvida na regulação da regulação da construção do complexo SNARE (receptor de proteína de ligação NSF solúvel); ligada ao processo responsável pela liberação de grânulos citotóxicos por células natural killer (NK).

Fonte: GenBank

Os genes que foram abordados neste trabalho são aqueles que possuem literatura que aborda especificamente estes genes no câncer de mama ou que já foram relacionados a alguma via conhecida que leva à resistência ao Trastuzumabe.

O primeiro gene encontrado nesta análise que pode estar relacionado à resistência ao Trastuzumabe é o AFF3. Ainda são necessários mais estudos para compreender seu papel no câncer de mama e na resistência ao Trastuzumabe. Entretanto, um estudo demonstrou que a maior expressão de AFF3 em células mamárias gerou resistência ao tamoxifeno, medicamento utilizado no tratamento de câncer de mama positivo para receptor de estrogênio. Nesse estudo verificou-se que a maior expressão de AFF3 ativou a via de sinalização do receptor de estrogênio, promovendo o crescimento do tumor de forma independente a esse hormônio e levou à transcrição de genes promotores do crescimento

tumoral regulados por esse receptor. Além disso, foi observado que o aumento da expressão desse gene estava ligado a um fenótipo mais agressivo e a uma pior sobrevida global em pacientes com câncer de mama positivos para receptor de estrogênio (SHI *et al*, 2018).

A função fisiológica do AFF3 ainda não é compreendida, entretanto um estudo associou o AFF3 aos efeitos oncogênicos da  $\beta$ -catenina em células do câncer adrenocortical. Nesse estudo também foi demonstrado que uma maior expressão do AFF3 está relacionada à maior expressão do gene CCND1, que está diretamente correlacionado a ação direta da via Wnt/ $\beta$ -catenina em células cancerígenas mamárias. Dessa forma, levantou-se a hipótese de que o aumento da expressão de AFF3 depende da ativação da via Wnt/ $\beta$ -catenina no câncer de mama. É importante ressaltar que a ativação da via de sinalização Wnt/ $\beta$ -catenina leva a transativação do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) e promove transição semelhante à transição epitelial para mesenquimal, que leva à resistência ao Trastuzumabe em células cancerígenas mamárias HER2 positivas. Portanto, pode-se levantar a hipótese de que o gene AFF3 se encontra mais expresso em células resistentes ao Trastuzumabe em função da sua relação com a via Wnt/ $\beta$ -catenina (LEFÈVRE *et al*, 2015; WU *et al*, 2012).

Outro gene altamente expresso nas células resistentes ao Trastuzumabe foi o NCAM2. Um estudo indicando que o NCAM2 pode ser uma molécula alvo para terapia gênica de câncer de próstata também detectou uma maior expressão desse gene em algumas linhas celulares de câncer de mama. O papel do NCAM2 no câncer ainda precisa ser mais estudado. Entretanto, nesse mesmo estudo, foi relatado que a expressão desse gene era induzida pelo transdutor de sinal e ativador da transcrição-5 (STAT5). Já se sabe que o STAT5 se encontra desregulado em muitos cânceres e faz parte da via de sinalização JAK/STAT5, que está associada a um mau prognóstico em câncer de ovário, de próstata, entre outros. Essa via de sinalização é iniciada pela interleucina-6 (IL-6), que curiosamente também está relacionada à resistência ao Trastuzumabe (TAKAHASHI *et al*, 2011).

Sabe-se que a exposição a longo prazo ao Trastuzumabe gera o aumento de IL-6 nas células mamárias inicialmente responsivas ao medicamento. O aumento de IL-6 conseqüentemente causa uma ativação exacerbada de transdutor de sinal e ativador da transcrição-3 (STAT3). A hiperativação de STAT3 promove a expressão de mucina-1 (MUC1) e mucina-4 (MUC4), que levam a célula a adquirir resistência ao anticorpo monoclonal ao ativar persistentemente o HER2 na membrana celular e bloqueio da ligação do Trastuzumabe ao HER2. Dessa forma, é possível levantar a hipótese de que as grandes quantidades de IL-6 podem gerar um aumento na expressão de NCAM2, bem como gerar resistência ao Trastuzumabe. Entretanto, mais pesquisas devem ser realizadas a fim de descobrir a relação entre o gene NCAM2 e a resistência ao Trastuzumabe adquirida pelas células cancerígenas mamárias (LI *et al*, 2014).

Assim como as vias mencionadas anteriormente, a via PI3K/Akt/mTOR também desempenha um papel muito importante na resistência ao Trastuzumabe. Um estudo recente apontou que o gene GREB1 consegue regular a sinalização da via PI3K/Akt/mTOR. Primeiramente, o estudo demonstrou que o silenciamento deste gene leva à inibição do crescimento do tumor. Em seguida, o estudo pontuou que o GREB1 ativa a PI3K, que converte fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP2) em fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato (PIP3). Depois de formado, o PIP3 ativa Akt, uma proteína que tem papel fundamental na via de sinalização responsável pelo crescimento e pela proliferação celular. Dessa forma, conclui-se que o GREB1 tem um papel crucial na proliferação das células cancerígenas mamárias responsivas aos estrogênio (HAINES *et al*, 2020).

A via PI3K/Akt/mTOR está relacionada à resistência ao Trastuzumabe uma vez que ela pode ser ativada por outras maneiras que não pela ativação do HER2. Ou seja, mesmo que o Trastuzumabe impeça a ligação entre o HER2 e o fator de crescimento epidérmico humano (EGF), ainda assim a via PI3K/Akt/mTOR pode ser ativada e levar ao crescimento exacerbado e proliferação das células cancerígenas mamárias. Portanto, se o GREB1 consegue ativar essa via, ele pode estar relacionado à resistência ao Trastuzumabe (DONG *et al*, 2021).

Na análise realizada neste trabalho, o gene ATP2A3 encontrou-se up-regulado em células cancerígenas mamárias resistentes ao Trastuzumabe. A princípio, foi gerada a hipótese de uma maior expressão desse gene levaria a um mau prognóstico. Entretanto, um estudo recente demonstrou que o fitoestrógeno Resveratol é responsável por aumentar a expressão de ATP2A3, e essa maior expressão induziu o processo de apoptose através de modificações nas concentrações de cálcio intracelular. É preciso que haja uma investigação mais aprofundada sobre quais são as vias de sinalização relacionadas à expressão de ATP2A3 especificamente no câncer de mama. Dessa forma será possível compreender qual a relação deste gene com a resistência ao Trastuzumabe (IZQUIERDO-TORRES *et al*, 2019).

Além da contradição encontrada em relação à maior expressão do gene ATP2A3, a análise realizada nesse trabalho também encontrou um outro empecilho. A pouca quantidade de pesquisas relacionando os demais genes mencionados na tabela 3 com o câncer de mama prejudicou que discussões mais aprofundadas fossem realizadas. Portanto, é necessário que mais pesquisas sejam feitas futuramente para aprofundar a compreensão sobre o papel desses genes na resistência ao Trastuzumabe.

#### 4 CONCLUSÃO

O anticorpo monoclonal humanizado Trastuzumabe tem sido muito utilizado no tratamento de pacientes com câncer de mama HER2 positivo. Ele vem apresentado resultados muito promissores e tem contribuído para um melhor prognóstico da doença. Entretanto, existem pacientes que passam a apresentar uma certa resistência primária ou adquirida ao Trastuzumabe, fazendo com que seu tratamento se torne um grande desafio. Identificar e analisar os genes diferencialmente expressos nas células mamárias neoplásicas antes e após o tratamento com Trastuzumabe, bem como nas células que apresentam resistência a ele, auxilia a revelar novos alvos terapêuticos e possíveis biomarcadores que podem ser utilizados para novas abordagens de tratamento.

A partir da análise dos genes diferencialmente expressos em células cancerígenas mamárias não tratadas, tratadas e resistentes ao Trastuzumabe, foi possível responder às perguntas estabelecidas nos objetivos deste trabalho. Os genes down-regulados em função do tratamento com Trastuzumabe foram CXCL10, CALML5, PLAUR e TAP1. Já os genes up-regulados a partir do tratamento foram CPB1 e CDO1. Por fim, os genes possivelmente relacionados a resistência ao Trastuzumabe foram AFF3, ATP2A3, COLEC12, GREB1, NCAM2, CLDN1, IFI27, KRT5, KRT81, LCN2, S100A9 e STXP2.

Todavia, este trabalho apresentou algumas limitações. Na pesquisa por trabalhos anteriormente publicados para compor os dados a serem tabulados e analisados, foram raras as publicações que disponibilizaram as tabelas completas dos genes diferencialmente expressos identificados nos estudos. Portanto, podem existir mais genes importantes que não foram abordados uma vez que não foram disponibilizados. Além disso, são necessários novos estudos que demonstrem de forma mais detalhada quais são as vias de sinalização

desses genes especificamente no câncer de mama e quais mecanismos de ação e de resistência ao Trastuzumabe influenciam na expressão desses genes.

## REFERÊNCIAS

BRASIL. Instituto Nacional do Câncer (INCA). **Dados e números sobre Câncer de mama**. Rio de Janeiro, 2023. Disponível em: [https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/relatorio\\_dados-e-numeros-ca-mama-2023.pdf](https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/relatorio_dados-e-numeros-ca-mama-2023.pdf). Acesso em: 30 jun. 2024.

BRAVO, M. J. *et al.* Unlocking New Avenues in Breast Cancer Treatment: The Synergy of Kinase Inhibitors and Immunotherapy. **Cancers**, v. 15, p. 5499, 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10705185/>. Acesso em: 07 abr. 2024.

CHANDRASHEKAR, D. S. *et al.* UALCAN: An update to the integrated cancer data analysis platform. **Neoplasia**, v. 25, p. 18-27, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S147655862200001X>. Acesso em: 4 abr. 2024.

COSTA, L. S. *et al.* Fatores de risco relacionados ao câncer de mama e a importância da detecção precoce para a saúde da mulher. **Revista Eletrônica Acervo Científico**, v. 31, p. e8174-e8174, 2021. Disponível em: <https://acervomais.com.br/index.php/cientifico/article/view/8174/5110>. Acesso em: 21 abr. 2024.

DEBALD, M. *et al.* Specific expression of k63-linked ubiquitination of calmodulin-like protein 5 in breast cancer of premenopausal patients. **Journal of cancer research and clinical oncology**, v. 139, p. 2125-2132, 2013. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00432-013-1541-yk63>. Acesso em: 15 maio 2024.

DONG, C. *et al.* Activation of PI3K/AKT/mTOR pathway causes drug resistance in breast cancer. **Frontiers in pharmacology**, v. 12, p. 628690, 2021. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/pharmacology/articles/10.3389/fphar.2021.628690/full>. Acesso em: 20 maio 2024.

FERNANDEZ-MARTINEZ, A. *et al.* Tumor Intrinsic Subtypes and Gene Expression Signatures in Early-Stage ERBB2/HER2-Positive Breast Cancer: A Pooled Analysis of CALGB 40601, NeoALTO, and NSABP B-41 Trials. **JAMA oncology**, v. 10, p. 603-611, 2024. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10979363/>. Acesso em: 21 abr. 2024.

FRAGOMENI, S. M.; SCIALIS, A.; JERUSS, J. S. Molecular subtypes and local-regional control of breast cancer. **Surgical Oncology Clinics**, v. 27, p. 95-120, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5715810/>. Acesso em: 07 abr. 2024.

GenBank. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), **National Center for Biotechnology Information**; 2004. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>.

Acesso em: 10 maio 2024.

HAINES, C. N. *et al.* GREB1 regulates PI3K/Akt signaling to control hormone-sensitive breast cancer proliferation. **Carcinogenesis**, v. 41, p. 1660-1670, 2020. Disponível em: <https://academic.oup.com/carcin/article/41/12/1660/5902307?login=false>. Acesso em: 20 maio 2024.

HEBERLE, H. *et al.* InteractiVenn: a web-based tool for the analysis of sets through Venn diagrams. **BMC bioinformatics**, v. 16, p. 1-7, 2015. Disponível em: <https://www.interactivenn.net/>. Acesso em: 21 abr. 2024.

HENLE, A. M. *et al.* Downregulation of TAP1 and TAP2 in early stage breast cancer. **PloS one**, v. 12, p. e0187323, 2017. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0187323>. Acesso em: 16 maio 2024.

HOFF, P. M. G. *et al.* **Tratado de oncologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2023. Disponível em: <https://plataforma.bvirtual.com.br/Leitor/Publicacao/210513/pdf/0?code=9lq/JuLG9QLD6GNXXQBeh6nBUT3sxsYfaQme4mn4/rSe1zA95XtjzacaUkJtqgVfm3Z2d69u/ghoaJueR+Lbg==>. Acesso em: 07 abr. 2024.

IZQUIERDO-TORRES, E. *et al.* Resveratrol up-regulates ATP2A3 gene expression in breast cancer cell lines through epigenetic mechanisms. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 113, p. 37-47, 2019. Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1357272519301141?casa\\_token=94VR3n4qbOAAAAA:6RNWZgunlQPdx7b7DjIS70Sspsr78lrZ-n4q9H9t4ticf\\_-87UfggQ0EngdN\\_cDv2pgu-2k](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1357272519301141?casa_token=94VR3n4qbOAAAAA:6RNWZgunlQPdx7b7DjIS70Sspsr78lrZ-n4q9H9t4ticf_-87UfggQ0EngdN_cDv2pgu-2k). Acesso em: 19 maio de 2024.

JORGE, J. J. Imunoterapia no tratamento do câncer. **Arq Asma Alerg Imunol**, v. 3, p. 133-8, 2019. Disponível em: [https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5280087/mod\\_resource/content/1/Texto%20-%20Imunoterapia%20no%20tratamento%20do%20ca%E2%95%A0%C3%A9ncer.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5280087/mod_resource/content/1/Texto%20-%20Imunoterapia%20no%20tratamento%20do%20ca%E2%95%A0%C3%A9ncer.pdf). Acesso em: 21 abr. 2024.

KIM, M. *et al.* Role of CXCL10 in the progression of in situ to invasive carcinoma of the breast. **Scientific reports**, v. 11, p. 18007, 2021. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-97390-5>. Acesso em: 15 maio 2024.

KOTHARI, C. *et al.* Is carboxypeptidase B1 a prognostic marker for ductal carcinoma in situ?. **Cancers**, v. 13, p. 1726, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/13/7/1726>. Acesso em: 16 maio 2024.

LEFÈVRE, L. *et al.* Combined transcriptome studies identify AFF3 as a mediator of the oncogenic effects of  $\beta$ -catenin in adrenocortical carcinoma. **Oncogenesis**, v. 4, p. e161-e161, 2015. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/oncsis201520>. Acesso em: 17 maio 2024.

LI, G. *et al.* Feedback activation of STAT3 mediates trastuzumab resistance via upregulation of MUC1 and MUC4 expression. **Oncotarget**, v. 5, p. 8317, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4226685/>. Acesso em: 19 maio 2024.

MACHADO, R. H. I.; SOUZA, J. R. Pacientes mulheres com câncer de mama metastático: impacto do diagnóstico e estratégias de enfrentamento. **Brasília Med**, v. 59, p. 00-00, 2022. Disponível em: <https://cdn.publisher.gn1.link/rbm.org.br/pdf/v59a49.pdf>. Acesso em: 06 abr. 2024.

MURAD, R. *et al.* Transcriptome and chromatin landscape changes associated with trastuzumab resistance in HER2+ breast cancer cells. **Gene**, v. 799, p. 145808, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378111921004030>. Acesso em: 14 mar. 2024.

RODRIGUEZ-ESTEBAN, R.I; JIANG, X. Differential gene expression in disease: a comparison between high-throughput studies and the literature. **BMC medical genomics**, v. 10, p. 1-10, 2017. Disponível em: <https://bmcmmedgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12920-017-0293-y>. Acesso em: 21 abr. 2024.

SAYERS, E. W. *et al.* GenBank 2024 update. **Nucleic Acids Research**, v. 52, p. D134-D137, 2024. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10767886/>. Acesso em: 20 maio 2024.

SHI, Y. *et al.* AFF3 upregulation mediates tamoxifen resistance in breast cancers. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 37, p. 1-10, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13046-018-0928-7>. Acesso em: 17 maio 2024.

SMARADHANIA, N. *et al.* Urokinase type plasminogen activator receptor (uPAR) and human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) expression in metastasis of breast cancer. **Breast Disease**, v. 40, p. S1-S7, 2021. Disponível em: <https://content.iospress.com/articles/breast-disease/bd219001>. Acesso em: 15 maio 2024.

TABASSUM, A. *et al.* Transporter associated with antigen processing 1 (TAP1) expression and prognostic analysis in breast, lung, liver, and ovarian cancer. **Journal of Molecular Medicine**, v. 99, p. 1293-1309, 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00109-021-02088-w>. Acesso em: 16 maio 2024.

TAKAHASHI, S. *et al.* Neural cell adhesion molecule 2 as a target molecule for prostate and breast cancer gene therapy. **Cancer science**, v. 102, p. 808-814, 2011. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1349-7006.2011.01855.x>. Acesso em: 19 maio 2024.

VIVEKANANDHAN, S.; KNUTSON, K. L. Resistance to trastuzumab. **Cancers**, v. 14, p. 5115, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/14/20/5115>. Acesso em: 14 abr. 2024.

VON DER HEYDE, S. *et al.* mRNA profiling reveals determinants of trastuzumab efficiency in HER2-positive breast cancer. **PloS one**, v. 10, p. e0117818, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4339844/#sec022title>. Acesso em: 14 mar. 2024.

WANG, J. *et al.* Single-cell RNA sequencing reveals novel gene expression signatures of trastuzumab treatment in HER2+ breast cancer: a pilot study. **Medicine**, v. 98, p. e15872, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6617483/>. Acesso em: 19 fev. 2024.

WU, Y. *et al.* Expression of Wnt3 activates Wnt/ $\beta$ -catenin pathway and promotes EMT-like phenotype in trastuzumab-resistant HER2-overexpressing breast cancer cells. **Molecular Cancer Research**, v. 10, p. 1597-1606, 2012. Disponível em: <https://aacrjournals.org/mcr/article/10/12/1597/89153/Expression-of-Wnt3-Activates-Wnt-Catenin-Pathway>. Acesso em: 17 maio 2024.

YANG, J. *et al.* Targeted demethylation of the CDO1 promoter based on CRISPR system inhibits the malignant potential of breast cancer cells. **Clinical and Translational Medicine**, v. 13, p. e1423, 2023. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ctm2.1423>. Acesso em: 16 maio 2024.

YU, J. *et al.* Implementation of antibody-drug conjugates in HER2-positive solid cancers: Recent advances and future directions. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 174, p. 116522, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332224004062?via%3Dihub>. Acesso em: 14 abr. 2024.

ZHAO, J. *et al.* Trastuzumab blocks the receiver function of HER2 leading to the population shifts of HER2-containing homodimers and heterodimers. **Antibodies**, v. 10, p. 7, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7931022/>. Acesso em: 16 abr. 2024.